

cilia, characterized by swellings of the plasma membrane. If the swellings are found in the central region of cilia (frequency of 23%) the axoneme is not modified, but if they are placed at the tip, which is more frequent (65.7%) the axoneme forms loops inside, and in many cases an altered axoneme is seen. These cilia can be disk-shaped, discocilia, or conical-shaped if the swelling occurs just in the subapical ciliary region, in agreement with descriptions by WASIK AND MIKOLAJCZYK (1991) in the ciliate *Cymatocilis convallaria*.

The observations on made these abnormal cilia also corroborate the reports of DILLY (1977a, b), HEIMLER (1978), MATTER AND DAVIS (1982), DURFORT ET AL. (1990) and CAJARAVILLE, MARIGÓMEZ AND ANGULO (1990-1991).

Although some authors (EHLERS AND EHLERS, 1978; SHORT AND TAMM, 1991) describe them as artifacts due to the hypertonic fixative medium and to high temperatures (EHLERS AND EHLERS, 1978) or to hypotonic medium (SHORT AND TAMM, 1991), we claim they are genuine structures and not artifacts, since using different buffers as well as different osmolarities and low temperatures (4 °C) they always appear in the same percentage. On the other hand, the axoneme of the spermatozoa of these animals is not altered, nor are the cilia of

some singular cells, known as atypical spermatozoa or apyrene spermatozoa (AMOR AND DURFORT, 1990a, b).

In some cases these modified cilia have been related by several authors to secretory organs (TAMARIN ET AL., 1976; DILLY, 1977a, b) where they seem to act as a spatula plastering the secretions into a tubule (DILLY, 1977a, b). They have also described acting as water paddles in the gills of some pulmonates (De Villiers and Hodgson, 1987, cited by CAJARAVILLE ET AL., 1990-1991), so it appears that, in some cases, the role is to import movement to the fluid. At the level of the gonoduct epithelium of *Bolinus (Murex) brandaris*, no evidence of parasitism has been detected, as there is no chemoreception. On other hand, as the necessary evacuation of the semen is evident, we propose a role in evacuation for these modified cilia.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Dr. Robert Bargalló, head of the Analytical Electron Microscopy applied to Biomedicine Section of the University of Barcelona, for his suggestions in the realization of this work, to Robin Rycroft for his help with the English version, and to Amadeu Blasco (Biologist) for the drawings.

BIBLIOGRAPHY

- AMOR, M. J., 1990a. Aspectos citológicos y ultraestructurales del conducto deferente de *Murex brandaris* (Gastropoda, Prosobranchia). *Iberus*, 9 (1-2): 81-89.
- AMOR, M. J., 1990b. Estudio ultraestructural del epitelio interno y externo del pene de *Murex brandaris* (Gastropoda, Prosobranchia). *Miscel.lània Zoològica*, 14: 7-16.
- AMOR, M. J., 1991. Estudio ultraestructural de las células prismáticas del gonoducto masculino de *Murex brandaris*. *Actas del VII Congreso Nacional de Histología*, Lugo: 18.
- AMOR, M. J. AND DURFORT, M., 1990a. Changes in nuclear structure during eupyrene spermatogenesis in *Murex brandaris*. *Molecular Reproduction and Development*, 25: 348-356.
- AMOR, M. J. AND DURFORT, M., 1990b. Atypical spermatogenesis in *Murex brandaris*. *Molecular Reproduction and Development*, 25: 357-363.
- AMOR, M. J., 1992. Ultrastructural study of the mucosa of the male gonoduct of *Murex brandaris* (*Hexaplex brandaris*) (Gastropoda, Prosobranchia). *Invertebrate Reproduction and Development*, 21 (2): 149-160.
- CAJARAVILLE, M. P., MARIGÓMEZ, J. A. AND ANGULO, E., 1990-1991. Light and electron microscopic study of the gills epithelium of *Littorina littorea* (Gastropoda, Prosobranchia). *Biological Structures and Morphogenesis*, 3 (1): 1-12.
- DENTLER, W. L., 1981. Microtubule-Membrane Interactions in Cilia and Flagella. *International Review of Cytology*, 72: 1-47.

- DENTLER, W. L., 1990. Linkages between Microtubules and Membranes in Cilia and Flagella. In Robert A. Bloodgood (Eds.): *Ciliary and Flagellar membranes*. Plenum Press, N. Y., London.
- DILLY, P. N., 1977a. Further observations within Paddle Cilia. *Cell and Tissue Research*, 185: 105-113.
- DILLY, P. N., 1977b. Material Transport within Specialised Ciliary shafts on *Rhabdopleura* Zooids. *Cell and Tissue Research*, 180: 367-381.
- DURFORT, M., BOZZO, M. G., POQUET, M., SAGRISTA, E., GARCÍA VALERO, J., AMOR, M. J., y RIBES, E., 1990. Ultraestructura del epitelio vibrátil de los gonoductos de *Tapes decussatus* y *Crassostrea gigas*. *Actas del III congreso Nacional de Acuicultura*, Vigo: 587-592.
- EHLERS, U. AND EHLERS, B., 1978. Paddle Cilia and Discocilia- Genuine structures?. *Cell and Tissue Research*, 192: 489-501.
- HEIMLER, W., 1978. Discocilia- A New Type of inocilia in the larvae of *Lanice conchilega* (Polychaeta, Terebellomorpha). *Cell and Tissue Research*, 187: 271-280.
- MATERA, E. M. AND DAVIS, W. J., 1982. Paddle cilia (discocilia) in chemosensitive structures of the gastropod mollusk *Pleurobranchia californica*. *Cell and Tissue Research*, 222: 25-40.
- REYNOLDS, E. S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron stain in electron microscopy. *Journal of Cellular Biology*, 17: 208-212.
- SHORT, G. AND TAMM, S. L., 1991. On the Nature of Paddle Cilia and Discocilia. *Biological Bulletin*, 180: 466-474.
- SPURR, A. R., 1969. A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructure Research*, 26: 36-43.
- TAMARIN, A., LEWIS, P. AND ASKEY, J., 1976. The structure formation of the byssus attachment plaque in *Mytilus*. *Journal of Morphology*, 149: 199-221.
- TORIKATA, C., 1988. The Ciliary Necklace- A Transmission Electron Microscopic Study Using Tannic Acid-Containing Fixation. *The Journal of Ultrastructure and Molecular Structure Research*, 101: 210-214.
- WASIK, A., AND MIKOLAJCZYK, E., 1991. Discocilia (paddle cilia) in the marine ciliate *Cymatocylis convallaria* (Tintinnina). *Cell Biology International Reports*, 15 (6): 485-491.

Recibido el 17-XII-1992

Aceptado el 18-VI-1993

Ultraestructura de los oocitos maduros de *Tapes decussatus* (Bivalvia). Estudio preliminar

Ultrastructure of the mature oocytes of *Tapes decussatus* (Bivalvia). A preliminary study

Maria Gràcia BOZZO, Montserrat POQUET y Mercè DURFORT*

RESUMEN

La gónada femenina de *Tapes decussatus* carece de células foliculares, característica muy frecuente en los moluscos bivalvos. Los oocitos por lo tanto están en contacto directo con el medio extracelular. El oolema, con abundantes microvilli está recubierto por la membrana vitelina, especialización de la matriz extracelular característica de los oocitos. A través de esta membrana la célula puede internar el material extracelular necesario para la síntesis de vitelo, pero al mismo tiempo incorpora a su citoplasma elementos contaminantes que alterarán en mayor o menor grado su normal desarrollo. El citoplasma presenta abundantes plaquetas vitelinas en distinto grado de formación, cuyo origen puede deberse a la endocitosis antes citada, o bien a la síntesis y modificaciones posteriores de algunos orgánulos citoplasmáticos: retículo endoplasmático, mitocondrias y láminas anilladas. Cabe destacar entre el conjunto endomembranoso del oocito que nos ocupa, la envoltura nuclear la cual presenta modificaciones notables relacionadas con la formación de material vitelino.

ABSTRACT

The female gonad of *Tapes decussatus* has no follicular cells, a common feature shared by all bivalve molluscs. Oocytes are thus in direct contact with the extracellular environment. The ooleme, abounding in microvilli, is covered by the vitelline membrane, an specialization of the extracellular matrix which is characteristic of oocytes. Through this membrane, the cell interns the extracellular material necessary for the synthesis of yolk and incorporates contaminants into its cytoplasm. These contaminants will, to a higher or lesser degree, alter the normal development of the cell. The cytoplasm abounds in yolk platelets with different degrees of formation. Their origin might either be the above mentioned endocytosis or the synthesis and subsequent modifications of some cytoplasmic organelles: endoplasmic reticulum, mitochondria, and annulate lamellae. Another feature worth noting of the endomembranous system of the oocyte we are dealing with is its nuclear envelope, as it shows remarkable modifications geared towards the formation of yolk material.

PALABRAS CLAVE: oocitos, oolema, núcleo, vitelogenesis, *Tapes*, Bivalvia.

KEY WORDS: oocytes, oolema, nucleus, vitellogenesis, *Tapes*, Bivalvia.

* Unitat de Biologia Cel·lular, Dep. Bioquímica i Fisiologia. Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona. Av. Diagonal, 645, 08071 Barcelona.

INTRODUCCIÓN

El estudio preliminar llevado a cabo en la almeja *Tapes decussatus* tiene por objeto caracterizar la morfología normal de la gónada femenina y los gametos de esta especie. De este modo, es posible hacer un seguimiento de las diversas alteraciones que puedan presentar los oocitos de ejemplares parasitados o sometidos a procesos de contaminación medioambientales por metales pesados, tal como se viene haciendo en otras especies de bivalvos (DURFORT, BARGALLÓ, BOZZO, FONTARNAU Y LÓPEZ CAMPS, 1982; DURFORT, BOZZO, FERRER, GARCÍA VALERO, POQUET, RIBES Y SAGRISTA, 1991a; DURFORT, FERRER, SAGRISTA, POQUET, BOZZO, GARCÍA VALERO Y RIBES, 1991b).

Dentro del grupo de los bivalvos, las especies más estudiadas son evidentemente las que tienen interés para su comercialización y consumo. Aunque *Tapes decussatus* se encuentra entre ellas, hasta el momento no tenemos conocimiento de ningún estudio histológico y citológico de la gónada femenina de esta especie. En cambio, sí han sido estudiadas otras especies de bivalvos, tales como *Mytilus edulis* (DURFORT, 1973a, 1979; PIPE, 1987; MICALLÉF Y TYLER, 1988), *Mytilus galloprovincialis* (BOLOGNARI, 1957) y *Pecten maximus* (DORANGE, PAULET, LE PENNEC Y COCHARD, 1989). La referencia más próxima a *Tapes decussatus* la tenemos en las investigaciones citológicas llevadas a cabo por MEDHIOUBY LUBET (1988) en los tejidos de reserva de la gónada de *Tapes philippinarum*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ejemplares estudiados proceden de los cultivos de la Bahía dels Alfacs en el delta del Ebro. Su tamaño oscila entre 35 y 42 mm de diámetro máximo.

Para el estudio al microscopio óptico se han fijado los fragmentos de ovario en formol al 10%, previa deshidratación y tratamiento con tolueno, han sido incluidos en parafina. Los cortes se han teñido panorámicamente con hematoxilina-eosina y con el método tricómico de Mallory.

Para la microscopía electrónica de transmisión, se han fijado las muestras en

glutaraldehído-paraformaldehído al 2,5% en tampón fosfato salino (PBS), seguido habitualmente de una postfijación con tetraóxido de osmio al 1,5% en el mismo tampón. Se han dejado muestras sin osmificar para poder efectuar los estudios microanalíticos. Las muestras deshidratadas mediante una serie de acetonas de graduación creciente, han sido incluidas en SPURR (1969), y los cortes ultrafinos contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo según REYNOLDS (1963).

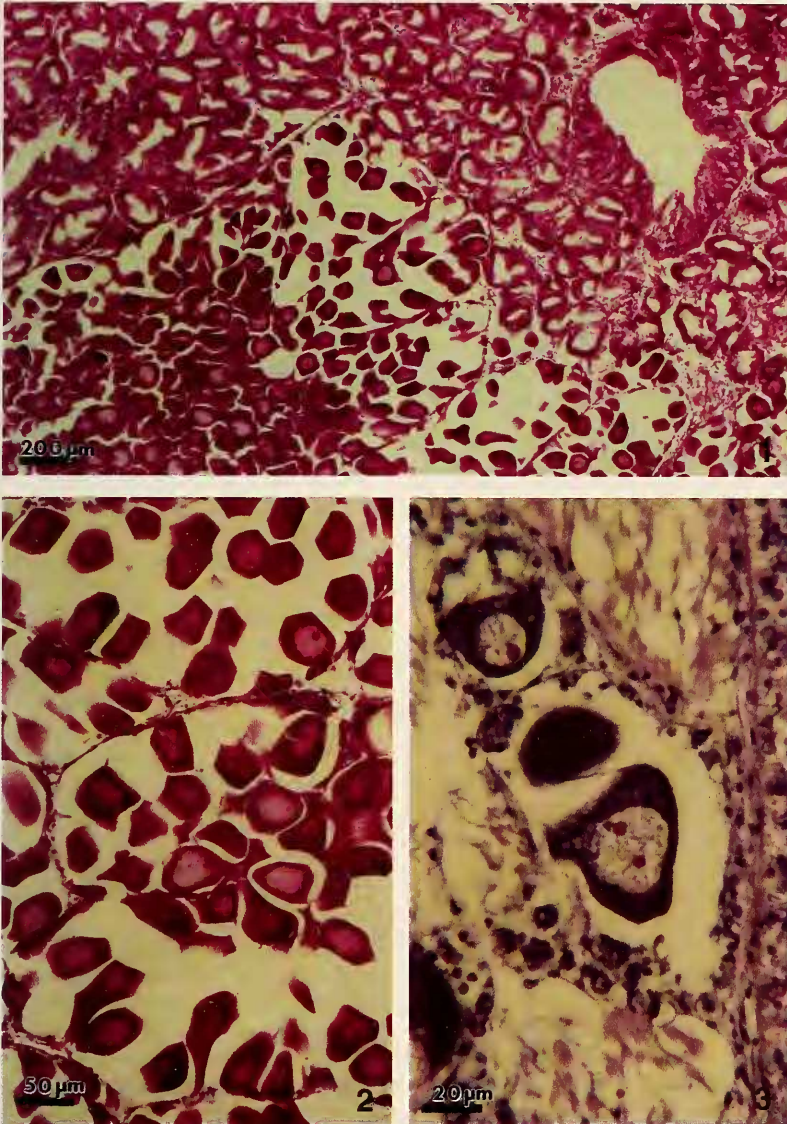
Las observaciones ultraestructurales se han hecho con un microscopio HITACHI 800MT. Para el estudio microanalítico se han utilizado cortes de unos 20 nm protegidos por una capa de carbón, colocados en rejillas de titanio cubiertas con una película de Formvar. Los resultados se han obtenido mediante un sistema de análisis por separación de energías KEVEX incorporado al microscopio. Los análisis se han efectuado a 100 KV de aceleración.

RESULTADOS

Si bien la gónada femenina de *Tapes decussatus*, como es general en los moluscos bivalvos, no tiene células foliculares ni células nutritivas, los oocitos se encuentran agrupados en folículos: compartimentos delimitados por un tejido conectivo bien visible al microscopio óptico (Fig. 1). El desarrollo del tejido conjuntivo interfolicular es un parámetro indicador del grado de madurez de la gónada. La ausencia de células foliculares determina que exista un mayor contacto entre las membranas plasmáticas, oolema, de los propios oocitos vecinos, así como ligeras deformaciones debidas presumiblemente a la presión producida por el aumento de volumen de los oocitos de cada compartimento o folículo (Fig. 2).

Al microscopio óptico los oocitos se observan como células más o menos esféricas de unos 40 a 50 μm de diámetro, en las que se distingue el citoplasma, más coloreado debido a la presencia del vitelo y un núcleo muy laxo con varios nucléolos (Fig. 3).

A nivel ultraestructural los oocitos maduros de *Tapes decussatus* presentan el aspecto característico de una célula me-



Figuras 1-3. *Tapes decussatus*. 1: corte de la gónada femenina al microscopio óptico. Se observan regiones diferenciadas del ovario con las células regularmente distribuidas. El tejido adyacente corresponde a los túbulos de la glándula digestiva. (H/E). 2: detalle de los folículos ováricos con los oocitos maduros presentando distinto aspecto atendiendo al nivel en que se han cortado. (H/E). 3: oocitos en los que se distingue claramente, después de la tinción con la técnica tricrómica de Mallory, el citoplasma, el núcleo y los dos nucléolos.

Figures 1-3. *Tapes decussatus*. 1: section of the female gonad, seen with an optic microscope. Differenced areas in the ovary with regularly distributed cells are visible. The adjacent tissue corresponds to the digestive gland tubules. (H/E). 2: detail of the ovaric follicles with mature oocytes, showing different aspects depending on the level of the section. (H/E). 3: oocytes where it is clearly visible, once stained with Mallory's trichromic, the cytoplasm, nucleus and the two nucleolus.

tabólicamente activa. La membrana plasmática posee especializaciones destinadas a aumentar la superficie de absorción de la célula. El citoplasma es muy rico en sistemas membranosos relacionados con la síntesis de material de reserva y secreción. El patrón de organización nuclear es el apropiado para dirigir dicha función sintetizadora: cromatina laxa, presencia de nucléolos y abundantes poros en la envoltura nuclear (Fig. 9).

Las estructuras celulares en las que hemos fijado preferentemente nuestra atención son: el oolema y la membrana vitelina, la envoltura nuclear y las plaquetas vitelinas.

El oolema emite numerosos microvilli de longitud y diámetro variable, los cuales adquieren a menudo la forma de botella o matraz. La base esférica de estas formaciones presenta continuidad con las vesículas de endocitosis situadas en la parte más periférica del citoplasma, es decir en el ectoplasma (Fig. 4).

La matriz extracelular constituida en cubierta vitelina, muy patente en esta especie, forma una capa ligeramente fibrosa con acúmulos densos a los electrones justamente alrededor de los microvilli a modo de "fuzz". Se ha analizado mediante dispersión de rayos X alguna de estas estructuras densas situadas sobre la cubierta vitelina o internas ya en la célula. El resultado (Fig. 5) muestra la presencia de hierro en cantidad muy superior a la de otros elementos.

El ooplasma presenta densidad media a los electrones debida a la abundancia de ribosomas. Sin embargo, se observan espacios o canalículos entre el retículo endoplasmático rugoso, los cuales ofrecen la imagen de un sistema o red de conexión a través de toda la célula (Fig. 6). Las vesículas del retículo endoplasmático rugoso pueden dar lugar a sistemas de láminas anilladas, estructuras frecuentes en los oocitos maduros de muchas especies (Fig. 7). Entre este complejo sistema trabecular aparecen numerosas mitocondrias distribuidas por todo el citoplasma. Su morfología es la característica y en algunas de ellas se pueden observar procesos de división, lo cual es habitual en los oocitos. Se encuentran también numerosas pla-

quetas vitelinas delimitadas por una membrana y abundantes gotas lipídicas, sin límite membranoso, apreciables por su menor densidad electrónica (Fig. 6).

La envoltura nuclear se halla formando numerosas lobulaciones sobre si misma y con abundantes poros (Fig. 9); sin embargo, en los oocitos estudiados se observan formaciones poco habituales derivadas de la envoltura nuclear.

La superficie citoplasmática de la envoltura nuclear, la cual tiene muchos poros, presenta acúmulos de material denso a los electrones. Dichos acúmulos son agrupaciones de pequeñas vesículas presumiblemente segregadas de la misma superficie nuclear (Fig. 10). Paralelamente, se observa la formación de compartimentos o vacuolas producidos por la separación de la doble membrana nuclear, provocando la aparición de espacios citoplasmáticos donde se acumula material denso a los electrones (Figs. 9 y 11). La coalescencia de ambas formaciones, pequeñas vesículas y vacuolas puede llevar a la formación de un tipo de plaquetas vitelinas.

Al mismo tiempo, la doble membrana nuclear da lugar a sistemas de láminas anilladas (Fig. 8), derivación relativamente frecuente en oocitos.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El proceso de la oogénesis ha sido clasificado tradicionalmente como un proceso solitario o folicular, según haya o no células foliculares acompañando al oocito durante su maduración, y si éstas desempeñan alguna función a lo largo del mismo. En los moluscos bivalvos se ha considerado la oogénesis como solitaria (RAVEN, 1966).

PIPE (1987) en el estudio realizado sobre la oogénesis de *Mytilus edulis* indica que los oocitos de este molusco durante los primeros estadios del proceso se presentan rodeados por un pequeño número de células foliculares. Sin embargo, a medida que se desarrollan los gametos, las células foliculares quedan restringidas a un tallo o pedúnculo que une el oocito con la pared de la gónada. Alrededor de los oocitos de *Tapes decussatus* no se han observado células foliculares ni en los estadios

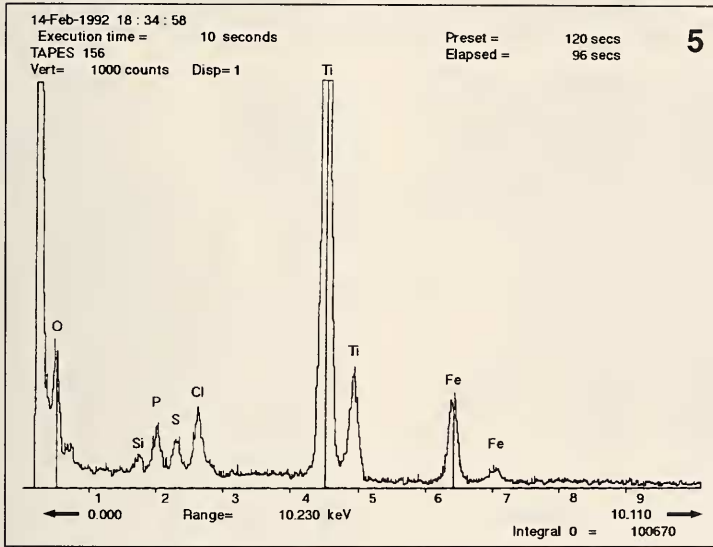


Figura 4. Imagen de la membrana vitelina del oocito de *Tapes decussatus* observada al microscopio electrónico de transmisión. Se distinguen los microvilli en forma de matraz, la matriz extracelular y el material electrodenso acumulado en la superficie externa y en el citoplasma (flechas). Figura 5. Espectro resultante del microanálisis del material denso de la imagen anterior. Cabe señalar el pico correspondiente al hierro, cuya presencia no es muy habitual en los oocitos. Abreviaturas. c: citoplasma, en: envoltura nuclear, l: gota lipídica, la: láminas anilladas, m: mitocondrias, me: matriz extracelular, mv: microvilli, n: núcleo, re: retículo endoplasmático rugoso, v: plaquetas vitelinas.

Figure 4. Transmition electron microscope image of the *Tapes decussatus* oocyte vitelline membrane. Microvilli flask-shaped, extracellular matrix and electrodense material in the outer surface and in the cytoplasm (arrows) are distinguishable. Figure 5. Spectrum from the microanalysis of the dense material of the previous image. Note the pick of iron, whose presence in oocytes is unusual.

Abbreviations. c: citoplasm, en: nuclear envelope, l: lipidic drop, la: annulate lamellae, m: mitochondria, me: extracellular matrix, mv: microvilli, n: nucleus, re: rough endoplasmatic reticulum, v: yolk platelets.

iniciales ni en los estadios más maduros de su desarrollo.

La ausencia de la células foliculares determina mayor contacto directo entre los oocitos de un mismo folículo y también la capacidad de éstos de incorporar, a través del oolema, los precursores necesarios para la síntesis del vitelo. Al mismo tiempo creemos que esta capacidad proporciona una vía de entrada de algunos iones metálicos presentes en el medio al citoplasma del oocito (Figs. 4 y 5).

Los iones metálicos se pueden acumular en distintos compartimentos celulares de los tejidos de los moluscos bivalvos, mediante la formación de complejos moleculares. Algunos metales pesados (Fe, Zn, Cu) son metabólicamente necesarios a concentraciones muy reducidas. Algunos autores (FOWLER, WOLFE Y HETTLER, 1975; NOTT, 1991) han indicado y demostrado con experimentos de contaminación con Hg realizados en bivalvos, que la incorporación de dicho elemento puede producir cambios notables en los niveles de Fe, Cu y Zn. En el presente estudio no se ha llevado a cabo hasta el momento la identificación del Hg; sin embargo, en las muestras analizadas no existen trazas de este elemento.

En la mayoría de las células los iones metálicos se unen a proteínas citosólicas formando estructuras vesiculares y lisosomas (POQUET, BOZZO, SAGRISTA Y DURFORT, 1992). En el estudio morfológico de los oocitos de *Tapes decussatus* no se distinguen formaciones lisosómicas, por lo que el Fe y otros metales pesados detectados se incorporarán al citoplasma para formar moléculas proteicas componentes habituales de las plaquetas vitelinas.

Si bien BUSSON-MABILLON (1984) describe en oocitos de trucha la formación de vitelo como un proceso realizado a través de endosomas y lisosomas, en *Tapes decussatus* no se distingue substrato morfológico para pensar en esta posibilidad. Además, en referencia al mencionado trabajo, las características citoquímicas y morfológicas de las estructuras estudiadas, así como el grado de madurez de los oocitos, nos lleva a pensar que las formaciones en cuestión son granos corticales cuya naturaleza es evidentemente lisosó-

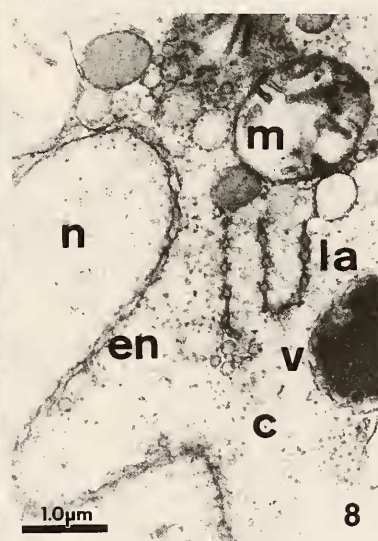
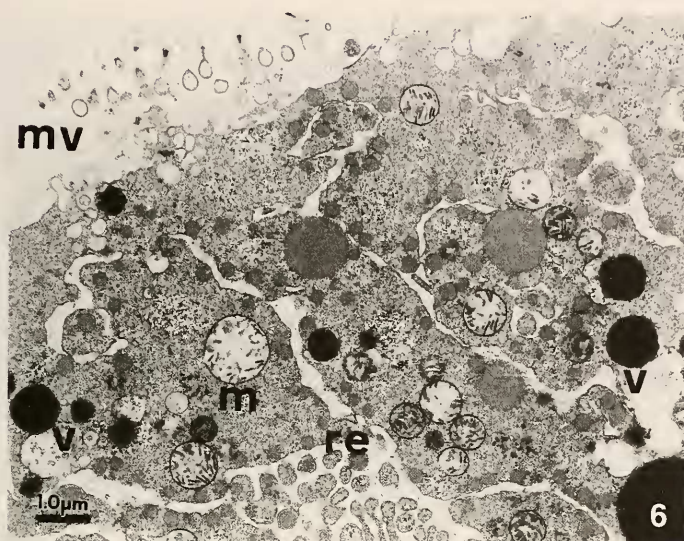
mica (SCHUEL, 1978; GURAYA, 1982; BOZZO, 1984; SOUSA Y AZEVEDO, 1988; WESSEL, 1989; WALLACE Y SELMAN, 1990).

El origen de las plaquetas es variable, según la mayoría de autores (PIPE, 1987; DURFORT, 1973a). En *Tapes decussatus* creemos interesante subrayar que juntamente con la génesis a partir de retículo endoplasmático rugoso, complejo de Golgi y mitocondrias, existe un origen a partir de cambios drásticos en la doble membrana nuclear.

En efecto, en los oocitos descritos se observa la complicada morfología de la envoltura nuclear que da lugar a dilataciones de las dos membranas formando sistemas de espacios membranosos que se separan del núcleo y se incorporan al citoplasma. Al mismo tiempo se observa la acumulación de material electrodens en la superficie de la membrana nuclear externa.

La aparición de acúmulos electrodensos producidos por emisiones del núcleo a través de los poros nucleares y evaginaciones de la envoltura nuclear fue descrita por primera vez por ANDERSON Y BEAMS (1956) en oocitos de insectos. Posteriormente, se han hallado en oocitos de muchas especies, tanto de invertebrados como de vertebrados (CLEROT, 1968; EDDY, 1974; CAPLET, 1981; AZEVEDO, 1984), recibiendo distintos nombres tales como: nematosomas, cuerpos cromatoides o "nuages". A menudo están asociados a grupos de pequeñas mitocondrias por lo que se les denomina cemento mitocondrial (ANDRÉ, 1962).

En los oocitos que nos ocupan, este material presenta una característica que no es común a los hasta ahora descritos. Se trata de un material vesicular y no compacto que se segrega de la envoltura nuclear. Estas formaciones se unen a las dilataciones de la superficie nuclear. El grado de compactado va aumentando hasta constituir plaquetas vitelinas bien definidas. La presencia de dilataciones de la envoltura nuclear se ha descrito en oocitos de *Mytilus edulis* (DURFORT, 1973a). Sin embargo, en *Tapes decussatus* se observa que no se trata solamente de una modificación de la envoltura nuclear, sino que además comporta la transformación en

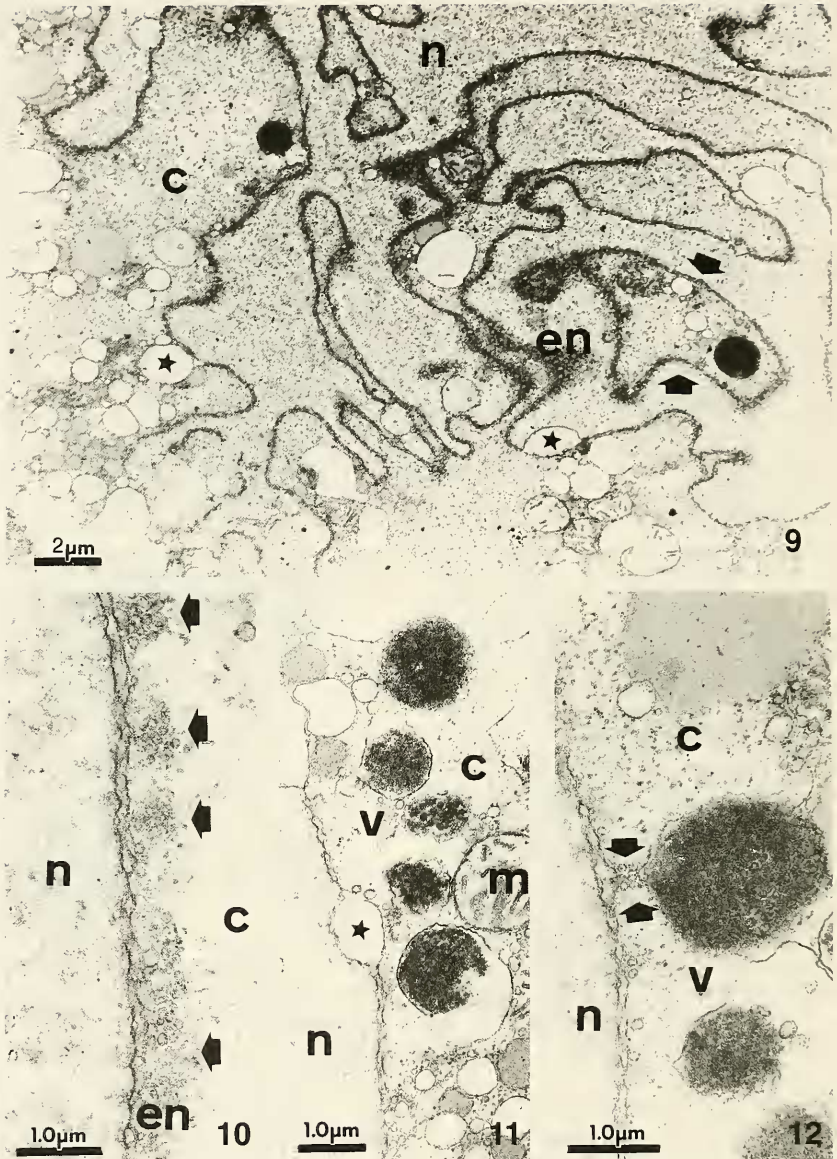


Figuras 6-8. Oocitos de *Tapes decussatus*. 6: citoplasma visto al microscopio electrónico de transmisión. Es interesante destacar la disposición canalicular del retículo endoplasmático rugoso y su gran desarrollo. 7: láminas anilladas en el citoplasma de un oocito. En esta imagen muestran continuidad con las vesículas del retículo endoplasmático rugoso. 8: láminas anilladas paralelas y muy cercanas al núcleo del oocito. Su aspecto es similar a la envoltura nuclear de la cual probablemente derivan.

Abreviaturas como en la Figura 4.

Figures 6-8. Tapes decussatus oocytes. 6: cytoplasm seen with a transmission electron microscope. Note the channel-shape arrangement of the rough endoplasmatic reticulum and its great development. 7: annulate lamellae in an oocyte cytoplasm. In this image, they show continuity with the vesicles of the rough endoplasmatic reticulum. 8: annulate lamellae, parallel and very close to the oocyte nucleus. Their appearance is similar to that of the nucleus envelope, from which they are probably originated.

Abbreviations as in Figure 4.



Figuras 9-12. Oocitos de *Tapes decussatus*. 9: disposición altamente irregular de la envoltura nuclear. Las invaginaciones pueden secuestrar zonas citoplasmáticas con abundantes orgánulos (flechas). Asimismo, se observan pequeñas vesículas formadas a partir de la membrana externa de la envoltura nuclear (*). 10-12: proceso de formación de plaquetas vitelinas a partir de vesículas formadas por la envoltura nuclear.

Abreviaturas como en la Figura 4.

Figures 9-12. *Tapes decussatus* oocytes. 9: highly irregular arrangement of the nuclear envelope. Invaginations can "kidnap" cytoplasmic areas with abundant organelles (arrows). Little vesicles originated from the external nuclear envelope (*) are also noticeable. 10-12: formation process of yolk platelets from vesicles originated by the nuclear envelope.

Abbreviations as in Figure 4.